

ЗМІНИ МІКРОБІОТИ КИШКІВНИКА ПІД ВПЛИВОМ МЕТФОРМІНУ, ПІОГЛІТАЗОНУ ТА ЛЕВОТИРОКСИНУ У ПАЦІЄНТІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ, НАДМІРНОЮ ВАГОЮ ТА ГІПОТИРЕОЗОМ*

Москва Х. А., Кіхтяк О. П., Лаповець Л. Є., Урбанович А. М.

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
м. Львів, Україна
moskva_khrystyna@outlook.com*

Цукровий діабет (ЦД) належить до патології, яка має значну частку в розвитку непрацездатності, інвалідності та смертності населення. За даними Центру медичної статистики МОЗ України станом на 1 січня 2017 року в Україні офіційно зареєстровано 1 237 270 хворих на ЦД, без урахування АР Крим, м. Севастополь та територій Донецької та Луганської областей, що не підконтрольні Україні. Загальна кількість хворих на ЦД станом на 01.06.2020, які приймають препарати інсуліну та перебувають на диспансерному обліку, становить 214,4 тис. осіб. Припускають, що ще близько 20% інсулінозалежних хворих залишаються неврахованими, адже купують ліки за власний кошт [1].

Протягом останніх років увагу вчених привернула кишкова мікробіота (КМ), яку називають «мікробіальним органом» або, навіть, «біореактором» через її вплив на різ-

номанітні фізіологічні процеси в організмі людини [2, 3]. Завдяки синтезу цілої низки біологічно активних речовин, таких як коротколанцюгові жирні кислоти, триметиламін, норадреналін, серотонін, допамін, ацетилхолін, γ-аміномасляна кислота, вазоактивний інтестинальний пептид (ВІП), гістамін тощо, КМ здатна дистанційно контролювати функцію мало що не всіх органів і тканин. Наприклад, встановлено її вплив на появу хронічної хвороби нирок, ЦД (1 і 2 типів), атеросклерозу, серцево-судинних захворювань, онкопатології, ураження кісткової тканини, функцію щитоподібної залози тощо [4]. З іншого боку, достеменно не відомо, чи зміна КМ передують появі захворювання, чи є його наслідком. У дослідженнях на щурах, зокрема встановили, що штучно викликаний гіпотиреоз (післяопераційний) чинить безпосередній вплив на композицію КМ, а після 7 тиж-

* Роботу виконано за власною ініціативою авторів.

Дослідження виконано на власні кошти авторів статті.

Автори гарантують повну відповідальність за все, що опубліковано в статті.

Автори гарантують відсутність конфлікту інтересів і власної фінансової зацікавленості при виконанні роботи та написанні статті.

Рукопис надійшов до редакції 30.08.2022.

нів замісної терапії мікробіота «відновлюється» до вихідних значень [5]. Відомо, що гіпотиреоз часто призводить до збільшення маси тіла хворого. Однією із причин вважають зниження базової терморегуляції. Основною властивістю ендотермічної терморегуляції є здатність генерувати тепло шляхом підвищення метаболізму у відповідь на холодні температури навколишнього середовища для підтримки стабільної основної температури тіла. Цей процес, відомий як холод-індукований термогенез (ХІТ), був виміряний у людини ще в 1780 році Антуаном Лавуазьє, але новий інтерес виник через нещодавнє «повторне відкриття» холод-індукованого термогенного ефекту бурої жирової тканини (БЖТ) у дорослих людей [6]. Дослідження, проведене Маушарт К. та колегами в 2019 році, продемонструвало збільшення ХІТ у пацієнтів з гіпотиреозом, які отримували левотироксин, під впливом якого був досягнутий еутиреоїдний стан. Автори уточнили, що збільшення ХІТ у цих пацієнтів може бути пов'язано як з БЖТ-індукованим термогенезом, так і з термогенезом скелетних м'язів [7]. У дослідженні Анни Вортман та колег, що проводилося на мишах, було виявлено, що вплив холоду запускає метаболічну програму, яка організовує переробку ліпопротеїнів у БЖТ та печінкове перетворення холестерину в жовчні кислоти за допомогою альтернативного шляху синтезу. Цей процес залежить від печінкової індукції цитохрому P450 сімейства 7 підроддини b поліпептиду 1 (CYP7B1) і призводить до підвищення рівня в плазмі крові, а також фекальної екскреції жовчних кислот, що супроводжується виразними змінами мікробіоти кишківника і підвищеною продукцією тепла. Генетичні та фармакологічні втручання, спрямовані на синтез та виділення жовчних кислот, запобігали зростанню екскреції фекальних жовчних кислот,

змінювали бактеріальний склад кишківника та модулювали термогенні реакції [8].

КМ охоплює широке коло мікроорганізмів, що локалізуються головним чином в товстому кишківнику та, до меншої міри — у нижньому відділі тонкого кишківника. Переважна маса мікробіоти представлена строгими анаеробами, що не формують спор, серед яких переважає вид *Firmicutes* 60–80%, а близько 20–40% належать *Bacteroides*. Значно меншу частку займають факультативні анаероби, такі як *Escherichia coli*, молочнокислі бактерії, грампозитивні бактерії та ентерококи, що відносяться до роду *Lactobacillus*. Окрім вищезгаданих на постійній або тимчасовій основі у кишківнику виявлено також такі роди, як *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Candida*, *Enterobacteriaceae* та багато інших [9].

Тисячі метаболітів, що утворюються внаслідок симбіотичного життя господаря та мікробіоти, взаємодіють з рецепторами клітин (наприклад, епітеліальних чи печінкових) і викликають широкий спектр фізіологічних реакцій. У багатьох дослідженнях відмічалось, що дисбіоз КМ, зокрема через зміну бар'єрної функції кишківника, перетворюється на фактор швидкого прогресування інсулінорезистентності (ІР). Остання, як відомо, є ключовою ланкою патогенезу не лише ЦД 2 типу, але й низки інших патологічних станів, таких як гіпотиреоз, синдром полікістозних яєчників, атеросклероз тощо [10]. Враховуючи надзвичайну чутливість мікробіоти до змін, що відбуваються з господарем, та її безпосередній вплив на його метаболічні процеси, поставили за мету проаналізувати зміни кишкової мікробіоти під впливом метформіну, піоглітазону та левотироксину у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, надмірною вагою та гіпотиреозом.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Клінічне дослідження проводилося відповідно до вимог діючого законодавства України та у відповідності до етичних принципів Гельсінської декларації прав людини, Конвенції Ради Європи про пра-

ва людини і біомедицини. Дизайн дослідження, інформацію для хворого і форму інформованої згоди на участь у дослідженні розглянуто і ухвалено Комісією з питань етики Львівського національного медично-

го університету імені Данила Галицького. Усі пацієнти підписали інформовану згоду на участь у даному дослідженні.

Обстежено 36 пацієнтів (19 жінок та 17 чоловіків) у віці від 35 до 67 років, з надмірною вагою зі значеннями індексу маси тіла (ІМТ) $27,73 \pm 0,28$ кг/м² та вперше встановленим діагнозом ЦД 2 типу і гіпотиреозом. Пацієнтам було призначено індивідуально підібрану дозу левотироксину (від 25 до 150 мкг/добу), метформіну (від 500 до 2000 мг/добу) і піоглітазону (від 15 до 30 мг/добу). Обстеження пацієнтів проводилося у вихідному стані та після 6 місяців вищевказаної терапії, визначали антропометричні параметри, рівні тиреотропного гормону (ТТГ), вільного тироксину (вТ4), вільного трийодтироніну (вТ3); глюкози й інсуліну крові натще, індексу НОМА-ІР як інтегрального показника печінкової ІР; HbA1c; стан КМ оцінювали за рівнями бактерій: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Akkermansia muciniphila*, а також співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes*.

Вміст глюкози та HbA1c визначали на біохімічному аналізаторі «COBAS INTEGRA 400 plus». Вміст гормонів визначали імунохемилюмінесцентним методом на іму-

нологічному аналізаторі Immulite 1000. НОМА-ІР розраховували за формулою:

$$\begin{aligned} & \text{глюкоза натще (ммоль/л)} \times \\ & \times \text{інсулін натще (мкОд/мл)} / 22,5 \end{aligned}$$

Результат розрахунку індексу НОМА-ІР понад 2,77 розцінювали як ІР. Оцінку бактеріального складу калу проводили методом секвенування мікробіому калу пацієнта, що полягав у ампліфікації 16S rRNA генів за допомогою полімеразної ланцюгової реакції з використанням наборів універсальних бактеріальних праймерів.

Математичний аналіз результатів дослідження виконали за допомогою методів параметричної статистики з використанням програмного забезпечення «Excel» («Microsoft», США) та «STATISTICA» 6.0 («Statsoft», США), що ґрунтувалось на літературних джерелах [11].

Різницю між вибірками, що порівнювались, оцінювали як достовірну при $p < 0,05$. Для опису отриманих результатів також використовували тенденцію до вірогідної зміни $0,05 < p < 0,1$, оскільки ми вважали, що такі спостереження можуть вказати напрямок подальшого дослідницького пошуку з більшою вибіркою та довшим часом клінічного спостереження.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Під впливом призначеної терапії левотироксином усі пацієнти досягли стану еутиреозу, що відображено достовірним зниженням рівнів ТТГ у порівнянні з вихідними даними, а також достовірним підвищенням рівнів вТ4 та вТ3 після проведення терапії (табл. 1).

Під впливом протидіабетичної терапії, яку обрали на підставі міжнародних рекомендацій [12], спостерігали також суттєві зміни вуглеводного обміну. Виявлено достовірне зниження вмісту глюкози в крові натще, інсуліну натще, результатом згаданих змін стало достовірне зниження індексу НОМА-ІР та нормалізації HbA1c, що підтверджує ефективність обраної медикаментозної тактики згідно рекомендацій Американської діабетичної асоціації [12]. Відмічено також зсув ІМТ від більш

високих значень до показників, близьких до нормального рівня, що як вважаємо, вдалося досягти завдяки поєднанню метформіну із левотироксином. Беручи до уваги дані, отримані іншими дослідниками, можемо стверджувати, що не лише прямий вплив метформіну на ІР та левотироксину на відновлення метаболізму міг мати ефект відносно ваги пацієнтів, а також дія даних препаратів на ХІТ та здатність впливати на композицію КМ [5, 7, 8].

Відсотковий розподіл основних бактеріальних груп, що складають КМ, також зазнав змін (рис. 1).

До початку терапії дещо більше половини усієї бактеріальної маси припадало на *Bacteroidetes*, *Firmicutes* складали менше третини, *Actinobacteria* — трохи вище 5%, інші типи, у свою чергу, трошки більше де-

Зміни лабораторних показників до та після призначення метформіну, піоглітазону та левотироксину у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, надмірною вагою та гіпотиреозом, $M \pm m$ (n = 36)

Показник	Значення показників		p
	до лікування	після лікування	
ТТГ, мкМО/мл	11,17 ± 0,41	2,92 ± 0,16	p < 0,01
вТЗ, пг/мл	1,39 ± 0,06	3,25 ± 0,12	p < 0,01
вТ4, нг/дл	0,42 ± 0,04	1,54 ± 0,06	p < 0,01
Глюкоза, ммоль/л	8,36 ± 0,34	6,21 ± 0,31	p < 0,05
Інсулін, мМО/мл	15,97 ± 0,71	12,41 ± 0,58	p < 0,05
НОМА-IR, ум. од.	5,86 ± 0,34	3,51 ± 0,21	p < 0,05
HbA1c, %	7,41 ± 0,24	6,62 ± 0,15	p < 0,05
ІМТ, кг/м ²	27,73 ± 0,72	25,13 ± 0,51	p < 0,05

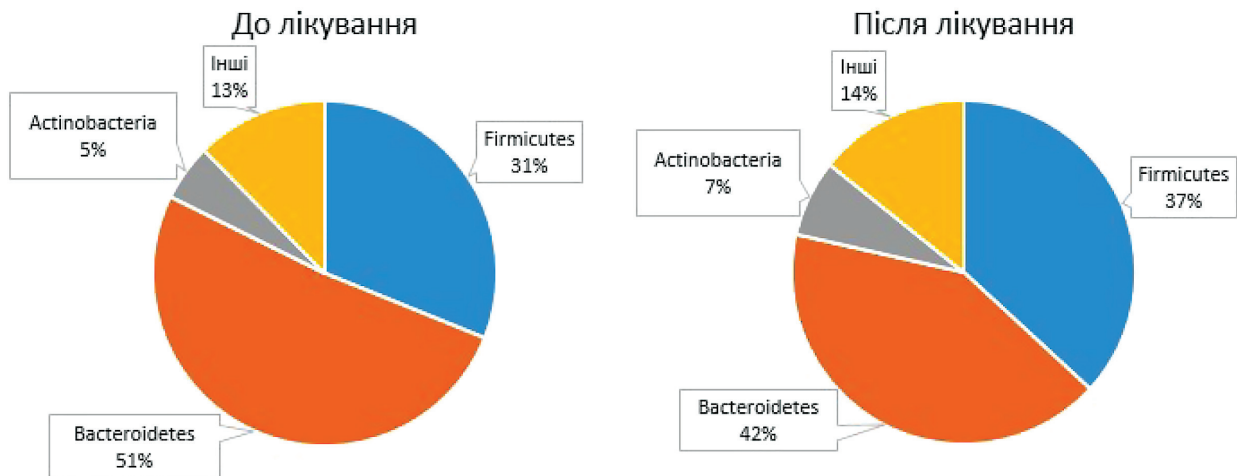


Рис. 1 Узагальнені зміни мікробіому кишківника до та після призначення метформіну, піоглітазону та левотироксину у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, надмірною вагою та гіпотиреозом (n = 36).

сятої частини від усієї бактеріальної маси. Після проведеної терапії і досягнення компенсації дане співвідношення змінилося у бік появи більш ширшого різноманіття мікробіому за рахунок зменшення частки *Bacteroidetes* та збільшення *Firmicutes* та *Actinobacteria*. Позитивні зміни також відзначено у появі більшої кількості дрібніших типів бактерій, об'єднаних під загальною групою «інші». Отримані зміни трактуємо як позитивний зсув, адже численні дослідження демонструють погіршення стану здоров'я у людей зі збідненою

КМ [13]. Зміщення складу КМ у напрямку збільшення різноманіття свідчить про покращення здатності організму до адаптації та появу опірності чинникам, що загрожують здоров'ю «господаря» [4].

Отримані нами дані збігаються з результатами досліджень Natalia G. Vallianou з колегами, які встановили прямий вплив метформіну на метаболіку кишківника з характерним посиленням вироблення бутирату й пропіонату – речовин, що беруть участь у гомеостазі глюкози [14].

ВИСНОВКИ

1. Проведене клінічне дослідження вперше виявило специфічні кількісні зміни структури кишкової мікробіоти у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, надмірною вагою та гіпотиреозом після рутинного піврічного комплексного лікування метформіном, піоглітазоном та левотироксином. Із нарощенням вмісту *Actinobacteria* та групи «інші», кишкова мікробіота продемонструвала різкий зсув у бік збільшення профілю *Firmicutes* та суміжне зменшення *Bacteroidetes*.
2. Виявлене зменшення сумарної частки *Firmicutes* і *Bacteroidetes* від 82% до 79% та зростання сукупного числа *Actinobacteria* і групи «інші» з 18% до 21% вказує на поступове розширення різноманіття кишкової мікробіоти під впливом тривалого лікування.
3. Уточнення особливостей впливу кожного з препаратів (метформіну, піоглітазону, левотироксину) на певні культури кишкової мікробіоти — важливі завдання подальших досліджень з метою встановлення нових патогенетичних ланок цукрового діабету 2 типу й гіпотиреозу, а також специфічних маркерів на етапах розвитку цих захворювань та їх компенсації.

ЛІТЕРАТУРА
(REFERENCES)

1. Oficijnyj sajt MOZ Ukrai'ny, available at: www.moz.gov.ua.
2. Jankovskij DS, Shyrobokov VP, Volosovec AP, et al. *Zhurn NAMN Ukrai'ny* 2013;19(4): 411-420.
3. Lu CC, Ma KL, Ruan XZ, Liu BC. *Int J Med Sci* 2018;15(8): 816-822.
4. Moskva HA, Urbanovych AM, Lapovec' LJe. *Probl Endokryn Patologii'* 2018;4(66): 85-90.
5. Shin NR, Bose S, Wang JH, et al. *FASEB J* 2020;34(6): 8686-8701. <http://doi.org/10.1096/fj.201903091RR>.
6. Brychta R, Chen K. *Eur J Clin Nutr* 2017;71: 345-352.
7. Sawicka-Gutaj N, Erampamoorthy A, Zybek-Kocik A, et al. *Metabolites* 2022;12: 336.
8. Worthmann A, John C, Rühlemann MC, et al. *Nat Med* 2017;23(7): 839-849.
9. Rudichenko VM, Odyne' MO, Todorashko II, Chervatjuk VV. *Farmakoterapija* 2014;9(185): 32-35.
10. Sapna Sh, Prabhanshu T. *J Nut Bioch* 2019;63: 101-108.
11. Lang TA, Sesik M. Kak opisyvat' statistiku v medicine: annotirovannoe rukovodstvo dlja avtorov, redaktorov i recenzentov, *Moskva*, 2011: 480 p.
12. American Diabetes Association. *Diab Care* 2021;44(1): 244. <https://doi.org/10.2337/dc21-S009>.
13. Davenport ER, Sanders JG, Song SJ, et al. *BMC Biology* 2017;15(1): 127.
14. Vallianou NG, Stratigou T, Tsagarakis S. *Hormones (Athens)* 2019;18(2): 141-144. <http://doi.org/10.1007/s42000-019-00093-w>.

**ЗМІНИ МІКРОБІОТИ КИШКІВНИКА ПІД ВПЛИВОМ МЕТФОРМІНУ,
ПІОГЛІТАЗОНУ ТА ЛЕВОТИРОКСИНУ У ПАЦІЄНТІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ,
НАДМІРНОЮ ВАГОЮ ТА ГІПОТИРЕОЗОМ**

Москва Х. А., Кіхтяк О. П., Лаповець Л. Є., Урбанович А. М.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,

м. Львів, Україна

moskva_khrystyna@outlook.com

Актуальність. Дискусія про роль кишкової мікробіоти (КМ) у хворих на цукровий діабет (ЦД) 2 типу розпочалася нещодавно і вимагає ґрунтовних спостережень. Цей виклик стає ще складнішим, особливо у пацієнтів з наявними супутніми захворюваннями, такими як гіпотиреоз і ожиріння, що отримують лікування.

Мета дослідження. Виявити зміни мікробіоти кишківника під впливом метформіну, піоглітазону та левотироксину у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, надмірною вагою та гіпотиреозом.

Матеріали та методи. Обстежено 36 пацієнтів (19 жінок і 17 чоловіків) віком від 35 до 67 років з індексом маси тіла (ІМТ) $27,73 \pm 0,28$ кг/м², у яких вперше діагностували ЦД 2 типу та гіпотиреоз. Пацієнтам призначили дозу левотироксину (25–150 мкг/добу), метформіну (500–2000 мг/добу) та піоглітазону (15–30 мг/добу) згідно індивідуальних потреб до досягнення стану компенсації. Пацієнтів обстежували до і після 6 місяців вищевказаної терапії, перевіряли масу тіла і зріст, лабораторно визначали рівень тиреотропного гормону, вільного тироксину, вільного трийодтироніну, глюкози в крові натщесерце і інсуліну, індексу НОМА-IR, HbA1c, стан КМ оцінювали за рівнями бактерій: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Akkermansia muciniphila*, а також співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes*.

Результати. Під впливом обраної терапії у всіх пацієнтів досягнуто стан еутиреозу і поліпшення глікемічного профілю. Обстеження КМ на початку терапії показало, що трохи більше половини всієї бактеріальної маси, а саме 51,21%, складають *Bacteroidetes*, 31,11% — *Firmicutes*, 5,31% — *Actinobacteria*, 12,37% — інші типи. Після проведеної терапії та досягнення компенсації це співвідношення змінилося в бік появи більш широкого різноманіття мікробіому за рахунок зменшення частки *Bacteroidetes* до 41,68 % і збільшення *Firmicutes* до 36,86 %, *Actinobacteria* — до 7,24 % і менш чисельних груп бактерій, об'єднаних під загальною групою «інші» — до 14,22 %.

Висновки. Клінічне дослідження вперше виявило специфічні кількісні зміни в структурі кишкової мікробіоти у пацієнтів з надмірною вагою з цукровим діабетом 2 типу та гіпотиреозом після піврічного комплексного лікування. Зі збільшенням вмісту *Actinobacteria* і групи «інших» кишкова мікробіота продемонструвала зрушення в бік збільшення профілю *Firmicutes* і суміжного зниження *Bacteroidetes*. З'ясування впливу кожного з препаратів (метформіну, піоглітазону, левотироксину) на певні культури кишкової мікробіоти є важливими завданнями подальших досліджень з метою встановлення нових патогенетичних зв'язків цукрового діабету 2 типу та гіпотиреозу, а також специфічних маркерів на етапах розвитку цих захворювань та їх компенсації.

Ключові слова: кишкова мікробіота, мікробіота кишківника у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, мікробіота кишківника при гіпотиреозі.

CHANGES IN THE GUT MICROBIOTA UNDER THE INFLUENCE OF METFORMIN, PIOGLITAZONE, AND LEVOTHYROXINE IN OVERWEIGHT PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS AND HYPOTHYROIDISM

Kh. A. Moskva, O. P. Kikhtyak, L. E. Lapovets, A. M. Urbanovych

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine
moskva_khrystyna@outlook.com

Background. Discussion about the role of gut microbiota (GM) in patients with type 2 diabetes mellitus (T2D) gives reasons for the appearance of new questions. This challenge becomes even more difficult especially in the case of concomitant pathologies. First of all, this refers to such comorbidity as hypothyroidism and obesity.

Materials and Methods. We examined 36 patients (19 women and 17 men) aged from 35 to 67 yrs, with body mass index (BMI) 27.73 ± 0.28 kg/m² who were diagnosed with T2D and hypothyroidism for the first time. Patients were given an individualized dose of levothyroxine (25–150 mcg/day), metformin (500–2000 mg/day), and pioglitazone (15–30 mg/day). Patients were examined before and after 6 months of the above therapy, body weight and height were checked; thyroid stimulating hormone, free thyroxine, free triiodothyronine, fasting blood glucose and insulin, HOMA-IR index, HbA1c levels were assessed. GM was assessed by bacterial levels of *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Akkermansia muciniphila*, and *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio.

Results. Under the influence of the chosen therapy, all patients achieved euthyroidism and improvement of glycemic profile. Examination of GM before the start of therapy revealed that slightly more than half of the total bacterial mass, namely 51.21% accounted for *Bacteroidetes*, 31.11% — for *Firmicutes*, 5.31% — for *Actinobacteria*, 12.37% for other types. After the therapy and the achievement of compensation, this ratio changed towards the emergence of a wider diversity of the microbiome by reducing the proportion of *Bacteroidetes* to 41.68 % and increasing *Firmicutes* to 36.86 %, *Actinobacteria* — to 7.24 % and smaller groups of bacteria combined under the general group «others» — to 14.22 %.

Conclusions. Our clinical study for the first time revealed specific quantitative changes in the structure of gut microbiota in overweight patients with type 2 diabetes mellitus and hypothyroidism after routine semi-annual complex treatment. With the increase in the content of *Actinobacteria* and the «others» group, gut microbiota showed a shift towards an increase in the *Firmicutes* profile and adjacent reduction of *Bacteroidetes*. Clarification of the influence of each of the drugs (metformin, pioglitazone, levothyroxine) on certain cultures of gut microbiota are important tasks of further research in order to establish unknown pathogenetic links of type 2 diabetes mellitus and hypothyroidism, as well as specific markers at the stages of development of these diseases and their compensation.

Key words: gut microbiota, gut microbiota in patients with type 2 diabetes mellitus, gut microbiota and hypothyroidism.